

Федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение  
высшего образования  
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт фундаментальной биологии и биотехнологии  
Кафедра медицинской биологии

УТВЕРЖДАЮ  
Заведующий кафедрой  
\_\_\_\_\_ Е. И. Шишацкая  
« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2019г.

**МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ**

Получение и исследование костных имплантатов методом прямого  
холодного прессования порошков ПГА  
06.04.01 Биология  
06.04.01.05 Реконструктивная биоинженерия

Научный руководитель	_____	_____
	подпись, дата должность, ученая степень	инициалы, фамилия
Выпускник	_____	_____
	подпись, дата	инициалы, фамилия
Рецензент	_____	_____
	подпись, дата должность, ученая степень	инициалы, фамилия

Красноярск 2019

## РЕФЕРАТ

Магистерская диссертация по теме «Получение и исследование костных имплантатов методом прямого холодного прессования порошков ПГА» состоит из 56 страниц, 11 рисунков, 6 таблиц и 50 литературных источников.

ПОЛИГИДРОКСИАЛКАНОАТЫ, 3D-ИМПЛАНТАТ, ПОЛИ-3-ГИДРОКСИБУТИРАТ, ПРЯМОЕ ХОЛОДНОЕ ПРЕССОВАНИЕ, КОМПОЗИТНЫЕ МАТЕРИАЛЫ, КОСТНАЯ ТКАНЬ.

Реконструкция и оптимизация процессов заживления дефектов костной ткани с помощью новых материалов и технологий является актуальной задачей в медицине. Существенный прогресс в этой области связан с применением природных полимерных материалов, способных к медленной деградации адекватной росту новообразованной ткани, среди которых полигидроксиалканоаты – полимеры биологического происхождения заслуживают особого внимания. Объект исследования магистерской диссертации – полимер гидроксимасляной кислоты поли-3-гидроксibuтират. Цель работы - получение и исследовании полимерных имплантатов на основе ПГА методом прямого холодного прессования. В работе использованы различные физико-химические, физико-механические методы исследования и приборная база (тестер плотности утряски PT-TD200 PHARMA TEST, прибор для измерения краевых углов DSA-25E, laser Pro Explorer 2, пресс Carver Auto Pellet 3887, ультрацентрифужная мельница ZM200).

Для достижения поставленной цели были решены следующие задачи: установлены оптимальные параметры режима фракционирования, исследован фракционный состав П(ЗГБ), из порошка П(ЗГБ) спрессованы имплантаты, исследованы их физико-механические характеристики, влияние модификации поверхности CO<sub>2</sub> лазера на свойства имплантатов, оценены биосовместимые свойства 3D-имплантатов *in vitro*.

## СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
----------	---

### ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ 7

1.1. Материалы для восстановления костной ткани.....	7
1.1.1. Полимерные материалы.....	10
1.1.2. Композитные материалы.....	13
1.2. Методы получения имплантатов для ортопедии.....	16
1.3. Потенциал микробных ПГА.....	19
1.3.1. Структура и свойства ПГА.....	19
1.3.2. Поли-3-гидроксibuтират.....	22
1.3.3. ПГА для получения биомедицинских изделий.....	24

### ГЛАВА 2 ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ 26

2.1. Объект исследования.....	26
2.2. Методы исследования.....	26
2.2.1. Исследование состава порошка П(ЗГБ).....	26
2.2.2. Насыпная плотность.....	26
2.2.3. Получение 3D-имплантатов с помощью метода холодного прессования.....	26
2.2.4. Исследование свойств поверхности 3D-имплантатов.....	27
2.2.5. Физико-механические свойства 3D-имплантатов.....	27
2.2.6. Модификация поверхности прессованных 3D-имплантатов с помощью щелочных растворов и CO <sub>2</sub> -лазера.....	27
2.2.7. Исследование адсорбционных свойств, поверхности прессованных 3D-имплантатов.....	28
2.2.8. Исследование адгезивных свойств в культуре клеток <i>in vitro</i> .....	28
2.2.9. Оценка эффективности применения 3D-имплантатов для регенерации дефекта нижней стенки орбиты.....	29

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТОВ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	31
3.1. Фракционный состав, измельченного П(ЗГБ).....	31
3.2. Влияние режимов прессования на свойства поверхности 3D-имплантатов.....	33
3.3. Влияние модификации поверхности 3D-прессованных имплантатов на адсорбцию белка.....	35
3.4. Оценка адгезионных свойств поверхности прессованных форм, обработанных СО <sub>2</sub> -лазером в культуре клеток <i>in vitro</i> .....	36
3.5. Оценка эффективности применения 3D-имплантатов для регенерации дефекта нижней стенки орбиты.....	43
ВЫВОДЫ	43
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	48
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	49

## ВВЕДЕНИЕ

Реконструкция и оптимизация процессов заживления дефектов костной ткани с помощью новых материалов и технологий является актуальной проблемой в медицине. Это обусловлено высоким уровнем травм опорно-двигательного аппарата и распространенностью стоматологических и других социально-значимых заболеваний костной ткани, что приводит к катастрофической потере трудоспособности населения и сопровождается огромными материальными затратами. Практический опыт, накопленный клиницистами в области челюстно-лицевой хирургии и травматологии, показывает, что используемые в настоящее время остеопластические материалы имеют как свои достоинства, так и недостатки.

Среди исследуемых материалов особое внимание уделяют – полимерам биологического происхождения, а именно – резорбируемым полиэфирам гидроксимасляной кислоты - полигидроксиалканоатам (ПГА). Совокупность свойств ПГА, включающих биологическую совместимость, биоразрушаемость и термопластичность, выдвигает эти полимеры в разряд высокотехнологичных материалов XXI века. Особенно перспективными областями применения ПГА являются биомедицинские технологии, связанные с разработкой материалов и устройств для реконструктивной хирургии. Однако в целом потенциал ПГА для восстановительной хирургии костных тканей к настоящему времени в полной мере не раскрыт. Мало данных о способах переработки этих полимеров в специализированные костнопластические материалы и изделия, что определило направление исследований настоящей работы, ориентированной на изучение процессинга костных имплантатов из природных разрушаемых полигидроксиалканоатов (ПГА).

Цель работы – получение и исследование полимерных 3D-имплантантов на основе ПГА, полученных методом прямого холодного прессования.

Для достижения цели, сформулированы следующие задачи:

1. Исследовать и отобрать режимы фракционирования гомогенизированного порошка П(ЗГБ).
2. Изучить влияние режимов холодного прессования на свойства поверхности и физико-механические характеристики 3D-имплантатов.
3. Исследовать влияние модификации поверхности прессованных 3D-имплантатов, после обработки щелочами и CO<sub>2</sub>-лазером.
4. Оценить биосовместимые свойства 3D-имплантантов в культуре клеток *in vitro* и *in vivo*.

## ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Материалы для восстановления костной ткани

В последние годы в клинической практике остро ставится вопрос о проблеме восстановления дефектов костной ткани. Решением этого вопроса являются разработки новых методик реконструктивных операций с использованием материалов, которые восполняют утраченный объем кости.

По происхождению все материалы для восстановления костной ткани делятся на четыре группы: аутогенные (донором является сам пациент), аллогенные (донором является другой человек), ксеногенные (донором является животное), аллопластические (синтетические, в том числе полученные из природных материалов). Кроме того, материалы для замещения костной ткани подразделяются на остеоиндуктивные (способные вызывать образование кости под действием специальных клеток – остеобластов, а также вызывать образование периодонтальной связки); остеокондуктивные (играющие роль пассивного матрикса для новой кости); остеонейтральные (используются только для заполнения пространства, являются биологически совместимыми чужеродными телами) материалы для обеспечения направленной тканевой регенерации (контактное подавление апикального разрастания эпителия) [3].

В зависимости от того как, биоматериал действует на ткани организма, их разделяют на биотолерантные, биоинертные и биоактивные. Биотолерантные материалы (металлы, металлические сплавы и полимеры), биоинертные (керамика на основе оксида алюминия и циркония), биоактивные (например гидроксиапатит). С точки зрения действия тканей организма на имплантат можно выделить материалы биodeградируемые – деградирующие под действием среды организма (металлические сплавы, полимеры), биорезистивные-устойчивые к воздействию тканей и среды

организма (ГА) и биорезорбируемые - являющиеся источником для формирования фосфатов кальция в организме (ТКФ, фосфатные биостекла). Возможно, именно материалы на основе резорбируемых фосфатов кальция обеспечивают наиболее быстрое восстановление функций костной ткани после операции [4].

Материал должен удовлетворять следующим требованиям: Во-первых, отсутствие токсичных для организма продуктов распада и метаболизма. Во-вторых, хорошая биodeградируемость, отсутствие воспалительных реакций и срастание с костной тканью, а также способность побуждать костные клетки остеобласты к формированию кости. В-третьих, наличие сквозных пор размером 100–150 мкм для лучшего срастания. К тому же имплантат должен быть сходен с костью по механическим характеристикам.

Самый распространенный подход к замещению поврежденных тканей и органов – выбор известных материалов для изготовления имплантатов. С этой целью широко используют металлы и их сплавы с высокими механическими свойствами.

Металлические материалы обладают выдающимися механическими свойствами, так как устройства из сплавов титана являются золотым стандартом для большинства методов лечения переломов с помощью фиксации. Тем не менее, они имеют ряд недостатков. Во-первых, после заживления переломов, необходима повторная операция для удаления имплантата. Во-вторых, металл устройства отрицательно влияют на контроль при магнитно-резонансной томографии. Поэтому выбор металлических материалов или сплавов для медицины является строгим процессом отбора. Выбор делают исходя из следующих характеристик: 1) биосовместимость 2) физические и механические свойства 3) старение материала [5]. Сравнительно недавно разработан материал из никеля и титана (нитинол), он обладает памятью формы и получил в настоящее время широкое применение для разработки различных устройств и имплантатов. Благородные металлы



(золото и платина) применяют в ограниченных масштабах для изготовления химически инертных протезов. Металлы в силу высокой механической прочности являются предпочтительным материалом для ортопедии. Это связано, прежде всего, с тем, что металлы характеризуются высоким пределом текучести и жесткости. Однако металлические конструкции требуют повторного хирургического вмешательства и могут превышать допустимые нагрузки на здоровые ткани.

Одним из важных материалов, является керамика. Главными характеристиками керамики являются биосовместимость, высокая твердость, изолирующие свойства теплоты и электричества, термо- и коррозионностойкость. Общим свойством керамических материалов является стойкость к воздействию высоких (свыше 500 °С) температур. Среди недостатков, ограничивающих применение керамики в медицине, ее хрупкость и ломкость. Керамики состоят из неорганических и органических соединений. Керамические материалы, используемые в медицине, называются биокерамикой. Среди биокерамик, нашедших клиническое применение (для реконструкции дефектов костной ткани) – оксид алюминия, двуокись циркония, окись титана, трикальцийфосфат, гидроксиапатит, алюминаты кальция, биоактивное стекло и стеклокерамика [6]. Упругие свойства керамики определяют ее механическое поведение и тесно связаны с кристаллической структурой. Помимо структуры на физико-механические свойства керамик существенное влияние оказывает способ обработки. Для клинического применения керамика должна иметь соответствующие биологические, физические и механические свойства. Трудно стабилизируемое свойство керамики – необходимость плотного и постоянного контакта с тканями в месте их дефекта. Если при контакте тканей и керамического имплантата возникают перемещения, то возможны разлом как собственно имплантата, так и костных структур. Как известно, скорости роста ткани у разных пациентов с различными видами травм чрезвычайно варьируют. Это обстоятельство, а также низкие прочностные

характеристики керамик весьма ограничивают области применения в медицине. Обычно керамики применяют для изготовления имплантатов в сочетании с более механически прочными металлическими материалами, в результате получают более прочные конструкции с усиленными механическими свойствами и упругими константами, соответствующими характеристикам костной ткани. Стремительное развитие науки и техники, наблюдаемое в последние годы, приводит к все более широкому внедрению в медицине различных соединений, включая высокомолекулярные, как синтетического, так и природного происхождения.

#### 1.1.1 Полимерные материалы

Синтетические полимеры представляют наибольшую группу полимеров, полученных путем синтеза из низкомолекулярных соединений. Синтетические полимеры получают методами полимеризации, сополимеризации и поликонденсации. Свойства синтетических полимеров зависят от их строения и молекулярной массы. Полимерные материалы с большей молекулярной массой характеризуются более высокой механической прочностью (на разрыв, изгиб, скручивание) и худшей растворимостью.

Характерной особенностью синтетических полимеров является полидисперсность — молекулы одного и того же полимера могут иметь разную величину, включая разное число структурных звеньев. Поэтому молекулярная масса полимера обозначает не истинную массу каждой молекулы, а лишь некоторое среднее ее значение.

При нагревании синтетические полимеры плавятся, а при охлаждении обычно приобретают аморфную структуру из-за очень большой вязкости расплава перед его затвердеванием. Однако синтетические полимеры могут приобретать и кристаллическую структуру. В этом состоянии у них более высокая температура плавления и они становятся значительно более прочными. Синтетические полимеры делятся на термопластические, способные многократно переплавляться без заметного изменения свойств, и

термореактивные, необратимо затвердевающие при более или менее продолжительном нагревании в результате протекания термохимических реакций. Синтетические полимерные материалы по многим свойствам существенно превосходят черные и цветные металлы, древесину, стекло, требуют меньших капитальных затрат на организацию их производства и обходятся значительно дешевле.

Природные полимеры – это достаточно сложные химические соединения. Их применяют в современном производстве для изготовления самых разнообразных материалов.

Непосредственно к природным полимерам современная наука относит самые разнообразные виды белков, полисахаридов, кислот, природных смол. Нередки случаи, когда на основе таких веществ разрабатывались различного рода искусственные полимеры, обладающие весьма высокими потребительскими качествами.

В качестве примера можно привести производство каучука. Именно он первоначально добывался исключительно в тропических лесах. На сегодняшний день он элементарно производится посредством искусственных методов.

Независимо от того, какого происхождения полимерный материал, основными характеристиками имплантатов являются эластичность и легкость. Но все они обладают рядом недостатков, связанных с их воздействием на живую ткань организма: после имплантации разрушаются и изнашиваются металлические материалы или окружающие их элементы биологических тканей и органов, что обусловлено коррозией металлов; полимерные материалы теряют эластичность и прочность. Применение протезов из них часто вызывает аллергические реакции организма, возможно, его разрушение и накопление продуктов взаимодействия в живой ткани, что может приводить к нежелательным канцерогенным и иммунологическим эффектам. Рассмотрим некоторые полимерные материалы.

Поликапролактон - биоразлагаемый полиэфир с низкой температурой плавления, широко применяется для производства специальных полиуретанов. При температуре 60 он становится мягким, прозрачным и пригодным для лепки. Он обладает прекрасной устойчивостью к воде, маслам и растворителям, имеет низкую вязкость, не имеет запаха, не пачкается при контакте, все остатки можно повторно переработать эти показатели делают поликапролактон востребованным на рынке.

Полилактид - биоразлагаемый, биосовместимый, термопластичный мономером которого является молочная кислота. Сырьем для производства служат ежегодно возобновляемые ресурсы, такие как кукуруза и сахарный тростник. Используется для производства изделий с коротким сроком службы (пищевая упаковка, одноразовая посуда, пакеты), а также в медицине, для производства хирургических нитей и штифтов. При производстве полилактида в атмосферу выбрасывается на 50% меньше углекислого газа, чем при производстве на основе нефти и на 35% меньше ископаемых ресурсов, при этом использование растворителя не требуется. Таким образом, производство ПЛА является экологически чистым. Что делает его конкурентно способным на рынке [7].

Сополимер полилактида с полигликолидом -полиэфир полимолочной и полигликолевой кислот. Он разрушается в организме до естественных метаболитов - молочной и гликолевой кислот, нетоксичен, не вызывает воспалительных реакций в месте введения, стабилен при хранении [7].

Создание экологически чистых материалов с полезными свойствами остается одной из ключевых проблем современности. Особую проблему представляет поиск новых материалов медицинского назначения, предназначенных для контакта со средой живого организма и необходимых для изготовления хирургических элементов, восстановления поврежденных тканей и конструирования искусственных органов и тканей. Еще более актуален поиск специализированных биологически совместимых материалов для сформировавшегося в последние годы нового направления медицинского

материаловедения – клеточной и тканевой инженерии, связанного с разработкой биологически искусственных органов.

### 1.1.2. Композитные материалы

Композиты – это многокомпонентные материалы, состоящие из полимерной, металлической, углеродной, керамической или другой основы, армированной наполнителями из волокон, нитевидных кристаллов и др. Композитные материалы – это смесь двух фаз или более, связанных вместе так, что передача напряжения происходит по их границе. Поскольку напряжение не передается в пустоты, пористая керамика, металл или пластмасса обычно не считаются композитом, даже если материал содержит две фазы – твёрдую и пустоты. Сочетание разнородных веществ, приводит к созданию нового материала, свойства которого количественно и качественно отличаются от свойств каждого из его составляющих. Варьируя состав матрицы и наполнителя, их соотношение, ориентацию наполнителя, получают широкий спектр материалов с требуемым набором свойств.

Многие композиты превосходят традиционные материалы и сплавы по своим механическим свойствам, но в то же время они легче. Использование композитов обычно позволяет уменьшить массу конструкции при сохранении ее механических характеристик путем подбора состава и свойств наполнителя и матрицы (связующего). Использование в одном материале нескольких матриц (полиматричные композиционные материалы) или наполнителей различной природы (гибридные композиционные материалы) значительно расширяет возможности регулирования свойств композиционных материалов. Армирующие наполнители воспринимают основную долю нагрузки композиционных материалов [8].

По структуре наполнителя композиционные материалы подразделяют на волокнистые (армированы волокнами и нитевидными кристаллами), слоистые (армированы пленками, пластинками, слоистыми наполнителями),

дисперсно-армированные, или дисперсно-упрочненные (с наполнителем в виде тонко-дисперсных частиц). Матрица в композиционных материалах обеспечивает монолитность материала, передачу и распределение напряжения в наполнителе, определяет тепло-, влаго-, огне- и химическую стойкость. По природе матричного материала различают полимерные, металлические, углеродные, керамические и другие композиты. Наиболее широкое применение получили композиционные материалы, армированные высокопрочными и непрерывными волокнами. Композиты, в которых матрицей служит полимерный материал, являются одним из самых многочисленных и разнообразных видов материалов. Их применение в различных областях дает значительный экономический эффект. Известны полимерные композиционные материалы на основе термореактивных (эпоксидных, полиэфирных, феноло-формальдегидных, полиамидных и др.) и термопластичных связующих, армированных различными добавками. В последние годы активно развивается направление получения композиционных материалов на основе углерода, армированного углеродными волокнами, это углеродные материалы. Композиционные материалы на основе керамики, армированной углеродными, карбид кремниевыми и другими волокнами, а также металлы с керамическими покрытиями активно применяют в стоматологии и ортопедии. Волокнистые композиционные материалы превосходят металлы и сплавы по прочности, термостойкости, виброустойчивости, шумопоглощению, ударной вязкости и другим свойствам. Композиты, в которых матрицей служит полимерный материал, являются одним из самых многочисленных и разнообразных видов материалов, применяемых в медицине.

Композиты на основе пластмасс (с полимерной матрицей) приобретают дополнительные свойства, которые делают материал еще более полезным с точки зрения эксплуатации. Вспенивание композита является дополнительным способом улучшения свойств, таких как легкость, теплоизоляция, прочностные характеристики [9].

Наногибридные полимер-неорганические композиты в последние годы приобрели большое значение. В таких материалах расстояние между сетками и слоями, образованными полимерными и неорганическими компонентами, а чаще всего и размеры образующихся частиц, в том числе и металлсодержащих, имеют нанометровые размеры. Органическая фаза может захватывать металлочастицы внутрь своеобразной «ловушки» с оптимальными размерами полимерной сетки, полимерного звена. В качестве неорганических составляющих используют оксиды кремния и алюминия, ванадия и молибдена и др. Например, полиимидные композиты с наноразмерными частицами  $\text{SiO}_2$  обладают высокой механической прочностью при формировании трехмерных неорганических сеток [10].

В настоящее время интенсивно ведутся исследования, связанные с возможностью синтеза искусственного гидроксиапатита (ГА), входящего в состав костной ткани. Среди основных направлений — улучшение механических характеристик полученных материалов и попытки связывания ГА органическими молекулами, что должно, повидимому, улучшить его биологические свойства. Таким образом, биологическая активность и механические характеристики материала оказываются в прямой зависимости от механизма соответствующих реакций [11][12]. Примером может служить композит органического полимера хондроитинсульфата натрия и желатина, продукт гидролиза коллагена. Основной целью данного исследования было изучение влияния органических макромолекул на осаждение гидроксиапатита в водных растворах, а также обнаружение возможных изменений в спектрах, происходящих при повышении температуры. Все полученные образцы характеризовались наличием только слабых адсорбционных взаимодействий между органической и неорганической составляющей, большую роль играли водородные связи, причем гидроксильная группа ГА не принимает участия в образовании настоящих химических связей с биополимерами и служит, повидимому, для увеличения степени гидратации. Все функциональные группы органических соединений,

наоборот, задействованы в образовании слабых связей с ГА, причем частота колебаний соответствующих групп изменяется не только при образовании композита, но и при изменении температуры [13].

## 1.2. Методы получения имплантатов для ортопедии

Для улучшения биосовместимости различных имплантатов в современной ортопедии используют разнообразные биопокрывтия на основе фосфатов кальция. Гидроксиапатит ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) является одним из наиболее перспективных биоактивных материалов, применяющихся для данных целей. При изготовлении имплантатов для ортопедии применяются методы ионно-плазменного, магнетронного, гидротермального и электрохимического нанесения ГАП на Ti,  $\text{TiO}_2$  и др. основы. В связи с этим, важным свойством является температурное поведение ГАП в различных процессах. В основу технологии получения гидроксиапатита в работе положен метод преципитации, как наиболее целесообразный для получения нанокристаллических образцов, лучше всего сопоставимых с биоструктурами [14].

Анодное оксидирование металлоизделий уже давно является распространенным и эффективным методом получения износостойких, коррозионностойких, диэлектрических, декоративных и др. функциональных покрытий с важнейшими эксплуатационными характеристиками. Анодно-оксидные поверхностные слои изделий значительно увеличивают срок их службы в условиях трения, химической и электрохимической коррозии, воздействия высоких температур, механических нагрузок. Исследования последних лет показывают перспективность применения анодного оксидирования в имплантологии при получении биопокровтий на костных имплантатах с высокой способностью адаптации к различным тканям и средам организма [15][16][17][18].



С точки зрения биохимической совместимости с организмом, при протезировании наиболее предпочтительны материалы, относящиеся к классу керамик. Технологические способы получения материалов влияют на свойства имплантатов.

На свойства керамики влияют условия ее синтеза. Микроструктура биокерамики зависит от размера зерен (не более 1 мкм).

Рассмотрим возможные способы получения керамических материалов:

- 1) традиционный метод спекания;
- 2) метод горячего прессования;
- 3) плазмохимический метод;
- 4) метод холодного прессования с последующим спеканием в вакуумной или атмосферной печи;
- 5) метод литья из термопластичных шликеров.

Для понимания сходства и отличий данных способов приведем их краткую характеристику.

Полученная традиционными методами спекания керамика имеет крупнозернистую структуру (размер зерна может достигать сотен микрон) и крайне низкие прочностные характеристики, что ограничивает область ее применения. Между тем известно, что при уменьшении размера зерна до величин порядка 1–5 мкм происходит уменьшение пористости и увеличение предела прочности. Получение мелкозернистой керамики традиционными методами спекания имеет ряд сложностей. При высоких температурах спекания (до 2000 К) происходит значительное увеличение размера зерна, предотвратить которое возможно с помощью метода горячего прессования, в котором объединены операции прессования и спекания.

Метод горячего прессования позволяет изготовить высокопрочный материал при использовании высокодисперсных порошков в качестве исходного сырья. Так, для корундовых материалов, полученных методом горячего прессования из высокодисперсных порошков, значения предела

прочности при трехточечном изгибе в два раза выше значений предела прочности этих же материалов, полученных обычным спеканием.

Предел прочности при изгибе для керамики из частично стабилизированного диоксида циркония находится в пределах от 500 до 2500 МПа и напрямую зависит от подготовки исходного порошка, метода и режима получения керамики. Высокие значения предела прочности при изгибе (2000–2500 МПа) и трещиностойкости (не менее 15 МПа\*м<sup>1/2</sup>) были получены для керамических материалов на основе керамики из частично стабилизированного диоксида циркония, изготовленной методом горячего прессования [19]. Метод спекания на воздухе позволяет получать материалы с гораздо более низкими значениями предела прочности при изгибе (800–1000 МПа) [20].

Плазмохимический метод выделяется тем, что позволяет за счет высокой скорости охлаждения продуктов реакции получать высокотемпературные фазы, в том числе в неравновесном состоянии, например твердые растворы с низкой растворимостью в равновесных условиях одного компонента в другом [21]. Керамика, изготовленная плазмохимическим методом, будет обладать новыми свойствами [22].

Известно, что структура и фазовый состав керамики существенно зависят от метода и условий получения. В литературе чаще всего исследуется керамика на основе оксидов, полученная с помощью холодного прессования с последующим спеканием в вакуумной или атмосферной печи, существуют исследования, посвященные изучению свойств циркониевой керамики, полученной горячим прессованием. Рассмотрим эти методы и свойства получаемых керамических материалов.

Холодное прессование и спекание. Операция формования предназначена для придания определенной формы, размеров и механической прочности заготовкам из порошков. Формование необходимо для изготовления изделий, обладающих комплексом заданных функциональных и механических свойств [23][24][25]. Как правило, это может быть

достигнуто приложением давления к заготовке тем или иным способом. Окончательные свойства получаемых изделий во многом зависят от плотности сформованных заготовок и распределения плотности по их объему. Общая относительная плотность заготовок и характер распределения плотности по объему зависят от способа формования (прессования), прикладываемого давления, среднего размера зерен или частиц порошка, наличия смазок при формовании в пресс-формах.

Метод прямого холодного прессования Он применяется для изготовления изделий различных форм, размеров, толщин, преимущественно из реактопластов, выпускаемых в виде порошков, гранул, армированных полимерных материалов, а также из резиновой смеси. Перед началом работы на прессе полимеры обрабатываются (сушка, таблетирование, предварительный нагрев), улучшая тем самым качество получаемых изделий [26]. Затем определенное количество перерабатываемого материала помещают в пресс-форму, установленную на прессе, далее пресс-форму смыкают. Материал начинает нагреваться, постепенно переходит в вязкотекучее состояние, под давлением от 7 до 50 МПа заполняет оформляющую полость и уплотняется. Материал выдерживают в пресс-форме под давлением до тех пор, пока не завершится отверждение полимера. Уже готовое изделие выталкивают из пресс-формы при температуре прессования. Для того что бы улучшить качество изделия в процессе прессования поочередно подают и снижают давление, а также применяют задержку подачи давления [27][28][29]. Выше упомянутые действия применяются для удаления из реактопластов летучих веществ. Задержка подачи давления применяется для снижения текучести реактопластов, имеющих при температуре формования очень низкую вязкость, с тем чтобы предотвратить их вытекание через пресс-формы в процессе уплотнения.

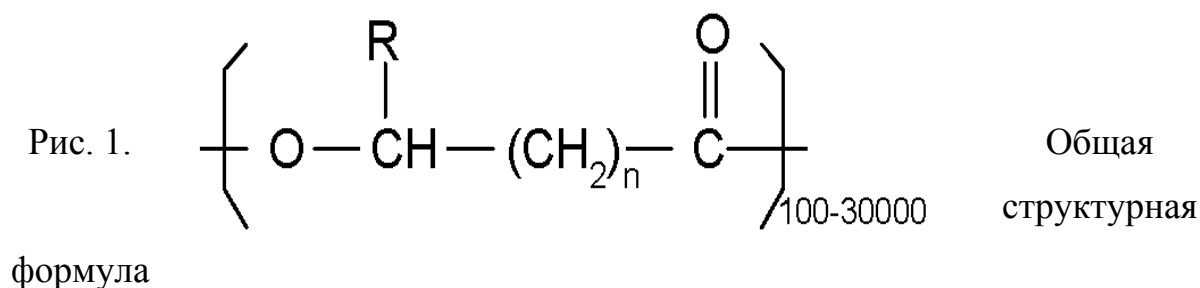
### 1.3 Потенциал микробных ПГА

#### 1.3.1 Структура и свойства ПГА

Полигидроксиалканоаты (ПГА) – это класс природных макромолекул, которые синтезируют прокариотические организмы в специфических условиях несбалансированного роста в качестве эндогенного депо энергии и углерода. ПГА обычно присутствует в клетках в виде гидрофобных включений, которые производятся когда питательные вещества, необходимые для роста, такие как азот, магний, сера или фосфор, ограничены. Некоторые бактерии способны накапливать ПГА внутриклеточно более 80% от сухой массы клетки [30].

В 1888 Бейжеринк первым обнаружил гранулы ПГА в бактериальных клетках [31]. Состав ПГА был впервые описан Лемонидженом, как неизвестный ранее материал, представленный гомополиэфиром 3-гидроксимасляной кислоты, названный полигидроксибутират (ПГБ) [32]. В последующие 30 лет интерес к этим неизвестным материалам был весьма незначительным. Макреи Уилкинсон в 1958 году в своем докладе описали некоторые функции ПГБ [33].

ПГА состоят из мономеров гидроксигирных кислот. Общая структурная формула полигидроксиалканоатов представлена на рисунке 1.



полигидроксиалканоатов [34].

- |                 |                              |
|-----------------|------------------------------|
| n=1 R = водород | - поли (3-гидроксипропионат) |
| R = метил       | - поли (3-гидроксибутират)   |
| R = этил        | - поли (3-гидроксивалерат)   |

R = пропил	- поли (3-гидроксигексаноат)
R = пентил	- поли (3-гидроксиоктаноат)
R = нонил	- поли (3-гидроксидодеканоат)
n=2 R = водород	- поли (4-гидоксибутират)
n=3 R = водород	- поли (5-гидроксивалерат)

Полигидроксиалканоаты подразделяют на три класса, которые зависят от мономерного состава:

1.Короткоцепочечные ПГА (Short-chain-lengthPHAs/ PHA<sub>SHL</sub>), в состав их мономеров входят от трех до пяти углеродных атомов и являются природными термопластиками.

2.Среднецепочечные ПГА (Medium-chain-lengthPHAs/PHA<sub>MCL</sub>), мономерный состав из 6-14 углеродных атомов, представляют собой природные эластомеры.

3.Длинноцепочечные ПГА (long-chain-lengthPHAs/PHA<sub>LCL</sub>) являющиеся сополимерами коротко- и среднецепочечных ПГА и включающие в мономерный состав свыше 14 углеродных атомов. Их свойства зависят от молярного соотношения мономеров коротко- и среднецепочечных ПГА [35].

Данное разделение полимеров на группы базируется на существующем представлении о субстратной специфичности ПГА-синтаз, акцептирующих определенные гидроксикислоты при строительстве полимерной цепи в процессе полимеризации [36][37].

По физико-химическим показателям ПГА близки к синтетическим полимерам (полипропилен), но наличие таких свойств, как оптическая активность, пьезоэлектрический эффект, антиоксидантные свойства и, самое главное, биосовместимость и биоразрушаемость делает их особенно перспективными материалами для клеточной инженерии [38].

Полигидроксиалканоаты (ПГА)- природные полиэфиры алкановых кислот, продуцируемые природными микроорганизмами и трансгенными организмами, обладают вариабельностью состава и спектром ценных

коммерческих свойств. В силу этого ПГА имеют широкие перспективы применения в различных сферах, прежде всего, различных областях медицины и фармакологии. Полигидроксиалканоаты чрезвычайно различаются между собой по структуре и свойствам (гибкости, кристалличности, температуре плавления и др.) в зависимости от таксономического положения и физиолого-биохимических свойств микроорганизмов-продуцентов, условий биосинтеза и типа углеродного субстрата [39].

Последовательность реакций биосинтеза ПГА следующая: на первом этапе происходит транспорт источника углерода, необходимого для синтеза полимеров, из внешней среды в клетку, который катализируется специфическими ферментными транспортными системами, локализованными в цитоплазматической мембране или расположенными диффузно внутри клетки. Вторая фаза, включающая комплекс анаболических и катаболических реакций, конвертирует компоненты в гидроксиацилкоэнзим-А, тиоэфир которого является субстратом для ПГА-синтазы. На третьем этапе ПГА синтаза (ключевой фермент биосинтеза данных полимеров) использует тиоэфир, как субстраты и катализирует образование эфирных связей между ними при участии КоА.

Данное представление не допускает, что ПГА синтаза для образования полимеров также использует другие эфиры гидрокси кислот. Вторая фаза - очень существенна для процесса в целом, так как во время нее источник углерода конвертируется в субстраты, необходимые для синтеза ПГА. Многие бактерии способны превращать КоА последовательно в ацетацетилКоА и далее - в D(-) -3-гидроксибутирил-КоА, дающий начало поли-3-гидроксибутирату.

ПГА являются резервными макромолекулами клетки (депо энергии и углерода) и синтезируются прокариотами в специфических условиях несбалансированного роста, когда синтез основных соединений (белка и нуклеиновых кислот) ограничен, но при избытке углерода в среде.

### 1.3.2. Поли-3-гидроксибутират

Поли-3-гидроксибутират является гомополимером  $\beta$ -оксимасляной кислоты и представляет полиэфир с регулярными, повторяющимися единицами. В отличие от сложных синтетических полиэфиров, поли-3-гидроксибутират – это стереорегулярный, оптически активный полимер, который образует спирали в растворе и кристаллизуется в сферолиты [40].

Внутри клеток ПГБ, как и другие ПГА, аккумулируется в цитоплазме в виде сферических включений (гранул) и находится в гранулах в подвижном аморфном состоянии. В составе гранул присутствуют также фосфолипиды и белки в количестве, соответственно, 2,1 мг и 0,2  $\mu$ м на 100 г полимера. Гранулы заключены в мембрану толщиной 2-4 мкм. Плотная и высокая гидрофобность полимерных цепей в гранулах связана с наличием ограничивающих фосфолипидных оболочек, которые расположены монолинейно и укреплены белковыми структурами. В клетках полимер находится в аморфном состоянии [41].

Процесс кристаллизации полимера начинается после экстракции полимера из клеточной массы неполярными растворителями. ПГБ представляет собой бесцветное полукристаллическое гидрофобное вещество. Плотность аморфной фазы составляет 1,177 г/см, кристаллической – 1,23-1,26 г/см. Кристаллическая фаза доминирует над аморфной [42].

В растворах в равновесном состоянии макромолекулы полимерных материалов могут образовывать различные конформации структуры, зависящие от типа растворителя, длины и жесткости молекулярных цепей. Растворяется полимер в хлороформе, трихлорэтилене, дихлорацетате, диметилформииде, этил ацетате, ледяной уксусной кислоте, камфоре [43] [44][45]. Молекулярная масса ПГБ может составить от нескольких сотен до миллионов Да. Эта величина зависит от типа используемого продуцента, условий его выращивания, а также метода экстракции полимера из биомассы и применяемых при этом растворителей [45]. Молекулярная масса является очень важным параметром, так как определяет технологические свойства

материала и возможности его переработки. Известно, что механическая прочность ПГБ существенно ухудшается, если его молекулярная масса составляет менее 10000 Da, так при низких значениях параметра ( $M_w$  200000 Da) полимер очень хрупкий. Установлено, что влияние источника углеродного питания, на молекулярную массу синтезированного ПГБ может быть значительным.

У ПГБ, аналогично многим полимерным материалам, температура, при которой происходит их деформация, несколько ниже температуры кипения (температура деградации), поэтому газовое состояние в полимерах не реализуется и основным видом фазового равновесия в них является конденсированное состояние - кристаллическое, вязко-текучее и жидкое [46]. Способность ПГБ кристаллизоваться определяется внутренними свойствами его цепей и характеризуется температурой кристаллизации. Для гомогенного ПГБ температура плавления лежит в диапазоне 176-180°C, температура начала кристаллизации в области 47°C [47][48] [49]. Термическая деградация ПГБ при температурах около 300°C ведет к образованию продуктов пиролиза, главным образом олигомеров и в небольших количествах изокротоновой кислоты.

### 1.3.3. ПГА для получения биомедицинских изделий

Чистота, отсутствие токсичных примесей и технологических добавок, а также, способность поддаваться стерилизации доступными методами без изменения структуры и физико-химических свойств, является первостепенными характеристиками полимерного материала для использования в медицине. Природные линейные термопластичные полимеры микробиологического происхождения – полигидроксиалканоаты (ПГА) – отвечают требованиям, предъявляемым в медицинском полимерам, обладают разрушаемостью, высокой биосовместимостью, поддаются переработке в изделия из различных фазовых состояний общепринятыми



методами, позволяют получать изделия различной конфигурации с высокими физико-химическими характеристиками [50].

Большие надежды связываются с ПГА применительно к регенерации костных тканей. В последние годы все большее развитие получают исследования, направленные на разработку хирургических конструкций для регенерации и лечения поврежденных костных структур с помощью пористых биodeградируемых материалов вместо используемых металлических конструкций.

## ГЛАВА 2 ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Объект исследования

Для изготовления 3D-имплантатов были взяты образцы гомогенного полимера поли-3-гидроксibuтирата со следующими показателями: средневесовая молекулярная масса ( $M_w$ ) = 1200 кДа, среднечисловая ( $M_n$ ) = 723 кДа, полидисперсность (ПД) = 1,66; степень кристалличности (Сх) 76 %.

### 2.2. Методы исследования

#### 2.2.1. Исследование состава порошка П(ЗГБ)

Фракционный состав полимера (12 г) исследовали с помощью, просеивающей машины AS 200 control (Германия), используя 4 режима фракционирования: 1) Амплитуда - 1.5; интервал 20 сек.; время 3 мин.; 2) Амплитуда - 2; интервал 20 сек; время 3 мин.; 3) Амплитуда - 1.5; интервал 20 сек; время 10 мин. 4) Амплитуда 2; интервал 20 сек; время 10 мин.

#### 2.2.2. Насыпная плотность

Измерение насыпной плотности полученных фракций проводили с помощью тестера плотности утряски PT-TD200 PHARMA TEST.

#### 2.2.3. Получение 3D-имплантатов с помощью метода холодного прессования

Для получения 3D-имплантатов, использовали порошок, предварительно измельченного на ультроцентробежной мельнице ZM 200, гомополимера поли-3-гидроксibuтирата (ПЗГБ), который был получен в процессе культивирования бактерий *Ralstonia eutropha* на базе Лаборатории биотехнологии новых биоматериалов Сибирского Федерального Университета. Методом прямого холодного прессования, на прессе Carver Auto Pellet 3887, были получены таблетированные 3D-имплантаты и пластины, при следующих параметрах силы: 6000 F, 14000 F и 22000 F, все образцы были получены при времени выдержки 15с.

#### 2.2.4. Исследование свойств поверхности 3D-имплантатов

Поверхностные характеристики полимерных изделий оценивали с помощью прибора для измерения краевых углов DSA-25E (Krüss, Германия) с использованием программного обеспечения DSA-4 для Windows. На поверхность образца с помощью микрошприцов поочередно наносили капли воды и дийодметана объемом 1,5 мкл с видеофиксацией моментов взаимодействия каждой жидкости с поверхностью образца. Для нахождения краевых углов смачивания кадр видеозаписи капли после ее стабилизации обрабатывался в полуавтоматическом режиме встроенным в программный пакет методом «Circle». Из полученных значений методом Оунса-Вендта-Рабеля-Кьельбле рассчитывали свободную поверхностную энергию, ее дисперсную и полярную составляющую (мН/м). Для каждой поверхности проводили не менее шести измерений; рассчитывали среднее значение и стандартное отклонение.

#### 2.2.5. Физико-механические свойства 3D-имплантатов

Физико-механические свойства полимерных изделий изучали с использованием универсальной испытательной машины Инстрон 5565, 5KN фирмы Instron (Великобритания) при комнатной температуре. Базовая (начальная) длина образцов – от 2,5 до 40 мм; скорость растяжения - 100 мм/мин. Измеряли абсолютную и относительную разрывную нагрузку, относительное разрывное удлинения, модуль упругости при 1% и 2% удлинение.

#### 2.2.6 Модификация поверхности прессованных 3D-имплантатов с помощью щелочных растворов и CO<sub>2</sub>-лазера

Сконструированы таблетированные формы, весом 30 мг, диаметром 5 мм (F=1000) обрабатывали NaOH и C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>O, и сравнивали с прессованными формами без обработки поверхности.

Прессованные 3D-имплантаты, предназначенные для реконструкции дефектов костной ткани, обрабатывали CO<sub>2</sub>-лазером (Laser Pro Explorer II) в режиме растровой и векторной гравировки, при мощности  $v=4\%$ , скорости

R= 100%, разрешении (dpi=1000). Методы лазерной модификации всё чаще и чаще применяются для улучшения свойств поверхности материала (газодинамические свойства, повышение проницаемости), по сравнению с традиционными методами модификации (химическое травление, закалка, ударное упрочнение).

Главные достоинства технологии лазерной модификации поверхности: локальность обработки, прочность межфазового натяжения, изменение гидрофобно-гидрофильного баланса и следовательно, повышение адгезионных свойств поверхности.

#### 2.2.7 Исследование адсорбционных свойств, поверхности прессованных имплантатов

Адсорбцию белка и поверхности прессованных имплантатов, после обработки щелочными растворами, проводили в растворе 1% бычьего сывороточного альбумина (15 мг на 3 мл дионизированной воды). Оптическую плотность измеряли с помощью прибора Aqilent Technologies Cary 60 uv-vis. Адсорбцию смотрели после 3, 6 и 12 часов инкубации образцов.

#### 2.2.8 Исследование адгезивных свойств в культуре клеток in vitro

Биосовместимость полученных изделий оценивали в первичной культуре остеобластов крысы. Жизнеспособность клеток оценивали с помощью МТТ-теста: для этого в лунку с каждым типом носителя было добавлено по 50 мкл раствора МТТ (5 %) и 950 мкл полной питательной среды. Через 3,5 часа культивирования среду с раствором МТТ замещали ДМСО для растворения образовавшихся кристаллов МТТ-формаза. Через 30 минут супернатант переносили в 96-луночный планшет и проводили измерение оптической плотности при длине волны 540 нм на микропланшетном фотометре Bio-Rad 680 («BioRad LABORATORIES Inc.»). Количество клеток оценивали по калибровочному графику. Морфологию клеток, прикрепившихся к поверхности матриксов, определяли с помощью окраски флуоресцентными красителями DAPI и фаллоидином,

конъюгированным с флуорохромом (FITC) (маркеры на ДНК и цитоплазму). Для флуоресцентной микроскопии клетки на матриксах фиксировали 4 %-м раствором формальдегида, затем обрабатывали раствором Tween 20, раствором альбумина и красили 50 FITC с последующим контрастированием ядер клеток с помощью DAPI. Распределение клеток изучали с помощью электронной микроскопии. Для этого использовали растровый микроскоп HITACHI TM-3000 с системой микроанализа BRUKER XFlash 430 H (Япония). Клетки предварительно фиксировали 4 %-м раствором формалина, затем трижды отмывали абсолютизированным этанолом и лиофильно высушивали; далее производили напыление платиной (10 мА, 40 сек) с помощью установки вакуумного напыления Emitech K575X («QuorumTechnologies Ltd.», Великобритания), съемку производили при напряжении 5 и 15 кВ.

2.2.9. Оценка эффективности применения 3D-имплантатов для регенерации дефекта нижней стенки орбиты.

Перед операцией учитывали высоту входа в орбиту (21мм), ширину (20мм) и глубину (19мм) орбиты кролика, расстояние между глазным яблоком и костными стенками (1-3мм). Операционное поле обрабатывали спиртовым раствором, далее вводили Sol.Inocaine 0.4% по 2 капли трехкратно эпibuльбарно. Sol.Lidocaine 0.5% 1 мл инфильтрационно и ретробульбарно. Затем проводили рассечение тканей 1,5 см в области предполагаемого перелома орбиты. Модельный дефект нижней стенки орбиты диаметром 3 мм был сформирован при помощи остеотома. Применяли имплантаты исходя из размеров орбиты кролика (0.8 x 0.5 см). В послеоперационном периоде осуществляли наблюдение за динамикой состояния животных. Рентгенологическое исследование выполняли на аппарате РУМ-20 в режиме 44mA 0.1 kV с экспозицией в 1 с. Морфологические исследования размера костного дефекта, формы, однородности проводили общепринятыми методами. Готовили

гистологические срезы (толщиной 5-10 мкм) которые окрашивали гематоксилином - эозином. На аутопсии оценивали состояние костной ткани.

### ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТОВ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Из текста выпускной квалификационной работы изъятые результаты интеллектуальной деятельности, которые имеют потенциальную коммерческую научную ценность в силу неизвестности их третьим лицам.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ГА	-	гидроксиапатит
ММСК	-	мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки
ПГА	-	полигидроксиалканоаты
ПЗГБ	-	поли-3-гидроксибутират
РЭМ	-	растровая электронная микроскопия
ТКФ	-	трикальций фосфат



## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Baino, F. Biomaterials and implants for orbital floor repair / F. Baino // *Acta Biomaterialia*. – 2011. – Vol. 7. – P. 3248–3266.
2. Волова, Т.Г. Полигидроксиалканоаты (ПГА) – биоразрушаемые полимеры для медицины / Т.Г. Волова, В.И. Севастьянов, Е.И. Шишацкая – Новосибирск.: СО РАН, 2003. – 260 с.
3. Десятниченко, К.С. Тенденции в конструировании тканеинженерных систем для остеопластики / К.С. Десятниченко, С.Г. Курдюмов // *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. – 2008. – Т. 3. – № 1. – С. 62–69
4. Ларионов Д.С. Путляев В.И. Низкотемпературные методы получения кальцийфосфатных биоматериалов. Вестник РФФИ, том 4(72), 2011 стр. 57-61
5. Волова, Т. Г. Материалы для медицины, клеточной и тканевой инженерии: учеб. пособие / Т. Г. Волова, Е. И. Шишацкая, П. В. Миронов. ИПК СФУ, 2009. – 27 с
6. Hyeong-Ho, J. In vivo evaluation of porous hydroxyapatite/chitosan–alginate composite scaffolds for bone tissue engineering / J. Hyeong-Ho, K. Dong-Hyun, K. Tae-Wan et al. // *J. of Biol. Macromol.* – 2012. – Vol. 51. – P. 1079–1085.
7. T. Maharanaa, B. Mohantyb, Y.S. Negi. Meltsolid polycondensation of lactic acid and its biodegradability; *Progress in Polymer Science* 34(2009) 99-124

8. Волова, Т. Г. Материалы для медицины, клеточной и тканевой инженерии: учеб.пособие / Т. Г. Волова, Е. И. Шишацкая, П. В. Миронов. ИПК СФУ, 2009. – 27 с
9. Кербер М.Л. Виноградов В.М. Головкин Г.С. Полимерные композиционные материалы: структура, свойства, технология: учеб. пособие. СПб.: Профессия, 2008.-560с
10. Кербер М.Л. под ред. Академика Берлина А.А.Полимерные композиционные материалы: структура, свойства, технология: учеб. пособие. СПб.: Профессия, 2008.-558с
11. Путляев В.И. // Соровский образовательный журнал. 2004. Т. 8. № 1. С.44.
12. Баринов С.М., Комлев В.С. Биокерамика на основе фосфатов кальция. М.: Наука, 2005. 204 с.
13. Н. И. Пономарева, Т. Д. Попрыгина, С. И. Карпов, М. В. Лесовой, Б. Л. Агапов Конденсированные среды и межфазные границы, том 11, С. 239-243
14. Левер, М. Д. Системы сердечно-сосудистой стимуляции / М. Д. Ле- вер // Биоматериалы, искусственные органы и инжиниринг тканей / Л. Хенч, Д. Джонс. – М.: Техносфера, 2007. – С. 199–212. (Серия «Мир биологии и медицины»)

15. Родионов И.В., Серянов Ю.В. Применение технологии анодного оксидирования при создании биосовместимых покрытий на дентальных имплантатах // Вестник Саратовского государственного технического университета, №2 (12), 2006. С. 77-87.

16. Родионов И.В., Бутовский К.Г. Функциональные свойства анодно-оксидных биосовместимых покрытий титановых дентальных имплантатов / Материалы междунар. науч. конф. «Химия, химическая технология и биотехнология на рубеже тысячелетий». Томск. Изд-во ТПУ, 2006, Т.2. С. 424-426.

17. Родионов И.В. Анодно-оксидные биосовместимые покрытия титановых дентальных имплантатов // Технологии живых систем. Т.3, №4, 2006. С. 28-32.

18. Родионов И.В. Исследование биоинтеграционных и антисептических свойств анодированных титановых имплантатов / Сборник науч. статей Всеросс. конф. «Актуальные проблемы электрохимической технологии». Саратов: Изд-во Сарат. гос. техн. ун-та, 2008. С. 196-200

19. Хахалкин В.В., Кульков С.Н. Влияние температуры горячего прессования на фазовый состав и параметры кристаллической структуры высокодисперсной порошковой системы  $ZrO_2-MgO$  // Перспективные материалы. 2009. № 2. С. 45–50.

20. Калатур Е.С., Буякова С.П., Кульков С.Н. Деформационное поведение пористых керамик, получаемых из высокодисперсных порошков //

Фундаментальные проблемы современного материаловедения. 2011. Т. 8, № 4. С. 95–98.

21. Колмаков А.Г., Баринов С.М., Алымов М.И. Основа технологий и применение наноматериалов. М., 2012.

22. Bayazit V, Bayazit M, Bayazit E. Evaluation of bioceramic materials in biology and medicine. Digest J Nanomater Biostruct. 2010; 7: 211–222.

23. Баринов С.М. Керамические и композиционные материалы на основе фосфатов кальция для медицины // Успехи химии. 2010. Т. 79, № 1. С. 15–32.

24. Колмаков А.Г., Баринов С.М., Алымов М.И. Основа технологий и применение наноматериалов. М., 2012.

25. Смирнов В.В., Баринов С.М., Шворнева Л.И. и др. Низкотемпературная карбонаткальцевая керамика // Перспективные материалы. 2009. № 2. С. 45–50.

26. Волова, Т. Г. Полиоксикапроаты-биоразрушаемые полимеры для медицины / Т. Г. Волова, В. И. Севастьянов, Е. И. Шишацкая; под ред. акад. В. И. Шумакова. – Красноярск: Изд-во «Платина», 2006. – 36 п. л.

27. Хенч, Л. Замена суставов / Л. Хенч // Биоматериалы, искусственные органы и инжиниринг тканей / Л. Хенч, Д. Джонс. – М.: Техносфера, 2007. – С. 147.

28. Толпекин, В. У. Трансплантология / В. У. Толпекин [и др.]; под ред. В. И. Шумакова. – М.: Медицина, 1995. – С. 160–180.

29. T. Maharanaa, B. Mohanty<sup>b</sup>, Y.S. Negi. Meltsolid polycondensation of lactic acid and its biodegradability; *Progress in Polymer Science* 34(2009) 99-124
  
30. Yoke-Ming Wong, Christopher J. Brigham, Anthony J. Sinskey, 2012
  
31. Chowdhury, Acid behavior of carboxylic derivatives of cellulose, 1963
  
32. Lemoigne, Polyhydroxyalkanoate Synthesis in Plant Peroxisomes, 1926; 1927
  
33. Macrae, Wilkinson, Poly-beta-hydrobutyrate metabolism in washed suspensions of *Bacillus cereus* and *megaterium*, 1958
  
34. Lee, G. H., Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice/Proenca R., Montez. J. M. et al. // *Nature*. 1996. V.379. P. 632-635.
  
35. Treatment of Saos-2 osteosarcoma cells with diallyl trisulfide is associated with an increase in calreticulin expression, WenPengXie, Guo-QiangChen, 2008
  
36. Anderson, A.J. Occurrence, metabolism and industrial uses of bacterial polyhydroxyalkanoates / A.J. Anderson, E.A. Dawes // *Microbiol. Rev.*, 1990. – V.54. – P. 450-102
  
37. Dawes, E.A. The role and regulation of energy reserve polymers in microorganisms / E.A. Dawes, P.J. Senior // *Adv. microbiol. physiol.*, 1973. – V. 10. – P. 10135-10266

38. Волова, Т.Г. Полигидроксиалканоаты (ПГА) – биоразрушаемые полимеры для медицины / Т.Г. Волова, В.И. Севастьянов, Е.И. Шишацкая – Новосибирск.: СО РАН, 2003. – 260 с.
39. Cox, M.K. Properties and applications of polyhydroxy alkanates / M.K. Cox, Y. Doi, K. Kokuba // Biodegradable plastic and polymers / Elsevier.:V. 28 - Amsterdam, 1994. – P. 20-135
40. Шишацкая Е.И. Исследование свойств полигидроксиалканоатов, перспективных для получения пористых матриц / Е.И. Шишацкая, С.А. Гордеев, Т.Г.Волова // Перспективные материалы. – 2004. – № 6. – С. 40-44.
41. Dawes, E.A The role and regulation of energy reserve polymers in microorganisms / E.A. Dawes, P.J. Senior // Adv. microbiol. physiol., 1973. – V. 10. – P. 10135-10266.
42. Ammas, W. Review of biodegradable polymers: uses, culterent developments in the sinthesis and characterization of biodegradable polyesters / W. Ammas, A. Ammas, B. Tighe // Polymer Int., 1998. – V.47. – P. 89-144.
43. Attawia, M.A. Osteoblast-like cell adherence and migration trough 3-dimensional porous polymer matrices / M.A. Attawia , K.M. Herbert, C.T. Laurencin // Biochem.biophiys. res. comm., 1995. – V. 213. – P. 639-644.
44. Devin, J. Three-dimensional degradab leporous polymer 0ceramic matrices for use in bonerepair / J. Devin, M.A. Attawia, C.T. laurencin // J.biomater. sci. edn., 1996. – V. 7. – 661-669.

45. Nomura, C.T Effectiveen hancementof short-chain-length-medium-chain-length polyhydroxy alkanoat ecopolymer production byco expression of geneticall yengineered 3-ketoacyl-acyl-carrier-proteinsynthaseIII (fabH) and polyhydroxy alkanoatesyn thes is genes. / Tanaka, T., Gan, Z., Kuwabara, K., Abe, H., Takase, K., Taguchi, K., andY. Doi. // . Biomacromolecules.2004, 5(4), 1457-1464

46. Ланина С.Я., Суслowa В.Ю., Бeняев Н.Е. и др. Оценка химического фактора риска применения сверхмолекулярного полиэтилена и гидроксиапатита в эндопротезировании // Перспективные материалы. 2011. № 2. С. 42–48.

47. Лотков А.И., Псахье С.Г., Мейснер Л.Л. и др. Влияние химического состава и шероховатости поверхности никелида титана на пролиферативные свойства мезенхимальных стволовых клеток // Перспективные материалы. 2011. № 4. С. 42–53.

48. Михайлина Н.А., Подзорова Л.И., Румянцева М.Н. и др. Керамика на основе тетрагонального диоксида циркония для реставрационной стоматологии // Перспективные материалы. 2010. № 3. С. 44–48.

49. Слюсарь А.А., Слюсарь О.А., Здоренко Н.М. Комплексные разжижающие добавки, снижающие теплопроводность керамических изделий // Перспективные материалы. 2012. № 6. С. 84–86.

50. Волова, Т.Г. Полигидроксиалканоаты (ПГА) – биоразрушаемые полимеры для медицины / Т.Г. Волова, В.И. Севастьянов, Е.И. Шишацкая – Новосибирск.: СО РАН, 10 с.






Федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение  
высшего образования  
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт фундаментальной биологии и биотехнологии  
Кафедра медицинской биологии

УТВЕРЖДАЮ

  
Заведующий кафедрой  
Е. И. Шишацкая

« 5 » июня 2019г.

**МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ**

Получение и исследование костных имплантатов методом прямого  
холодного прессования порошков ПГА

06.04.01 Биология


06.04.01.05 Реконструктивная биоинженерия

Научный руководитель

 к.б.н.  
подпись, дата должность, ученая степень

Шушкова А.А.  
инициалы, фамилия

Выпускник

  
подпись, дата

Заминер В.В.  
инициалы, фамилия

Рецензент

 к.м.н.  
подпись, дата должность, ученая степень

Макаров А.Ф.  
инициалы, фамилия